

# *Trabajos de colaboración*

FACULTAD DE MEDICINA DE GRANADA

CATEDRA DE FISIOLOGIA GENERAL, QUIMICA BIOLOGICA  
Y FISIOLOGIA ESPECIAL

Profesor Encargado de Cátedra: Dr. F. Perán Torres

## **Glucoproteínas y función hepática**

### **Un nuevo método para la obtención de sangre portal por sondaje endovenoso cavo-porta**

por

Fernando Perán Torres, Miguel Morell Ocaña y Antonio Luis Cabrera Garrido

En comunicaciones anteriores hemos abordado los problemas relacionados con la significación fisiológica de las glucoproteínas sanguíneas, razonando la capital importancia de estas cuestiones, sobre todo en vista de la ausencia de investigaciones en este campo, enfocadas desde un ángulo puramente fisiológico, a pesar del creciente número de estudios clínicos relacionados con el mismo.

En una amplia serie de experiencias estudiamos las variaciones del seromucoide fraccionado, del espectro electroforético protéico del plasma, así como del reparto electroforético de las gluco y lipoproteínas séricas, en perros con pancreatectomía total en fase aguda y mantenidos con dosis fijas de insulina; todo ello fue objeto de dos publicaciones, mientras que los resultados permanentes en los perros pancreatectomizados crónicos serán a su vez objeto de una nueva referencia ya muy próxima a publicarse.

De los resultados consignados en las dos Comunicaciones, deducimos interesantes conclusiones respecto a los aumentos en aquellas condiciones experimentales, no sólo de los constituyentes de la fracción convencional de WINZLER —ya ampliamente conocida con el nombre de

«seromucoide» — sino también del cuadro electroforético diferencial, y que son muy característicos.

A la vista de estos, y demás, resultados discutidos en aquellos trabajos y mientras proseguíamos el estudio del quinismo glucoprotéico de la sangre en los perros crónicos, nos pareció altamente atractiva la idea de acometer paralelamente una nueva vía dentro del plan general de nuestros trabajos, a saber: el papel del hígado en estas modificaciones, para lo cual proyectamos y realizamos su estudio con el preparado de anastomosis portocava.

### *Métodos*

Iniciamos la investigación operando perros con arreglo al método clásico de ECK. Los tres primeros perros del protocolo, de los cuales tenemos aún dos en supervivencia, forman este primer grupo. Seguidamente acometimos la tarea de realizar la anastomosis portocava con un nuevo método de sutura suspendida, consiguiendo después de numerosos ensayos una técnica nueva que, por fin, nos dio resultados completamente satisfactorios. Además, la anastomosis conseguida permite efectuar extracciones de sangre porta por sondaje endovenoso profundo desde la vena femoral. No tenemos referencias de que hasta ahora se haya conseguido una técnica que permita de modo ideal obtener de un mismo animal, repetidas veces, muestras de sangre porta en semejantes condiciones de inocuidad y reproducibilidad. No hace falta argumentar mucho sobre la trascendencia que este nuevo método ha de tener para infinidad de estudios bioquímicos y fisiológicos de esta zona tan mal conocida por su inaccesibilidad y que, a buen seguro, tiene que contribuir a descifrar numerosos problemas funcionales del sistema digestivo, así como a profundizar en las importantísimas misiones funcionales y metabólicas del hígado.

Haremos primero una referencia somera de la marcha metódica de ECK que, con escasas modificaciones, aplicamos en nuestros primeros casos, para enseguida describir el nuevo método de anastomosis portocava.

Para la operación sólo son adecuados perros adultos con tórax ancho y ángulo epigástrico obtuso.

Perro colocado sobre el costado izquierdo procurando provocar lordosis. Laparatomía media de unos quince centímetros desde el apéndice xifoides hacia abajo.

Presentación de la vena cava, porta y pancreático-duodenal; se fijan con dos hilos las dos paredes venosas. Entre los dos nudos de fijación se practica una sutura continua con aguja atraumática en un trayecto lo más apurado posible en longitud. A continuación se introduce, un mm. a la derecha y 2 mm. más arriba del extremo de esta sutura y en la vena

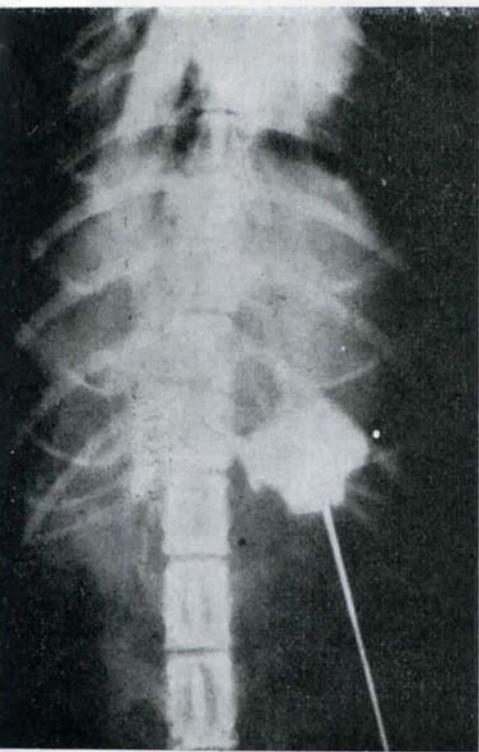


Fig. 1

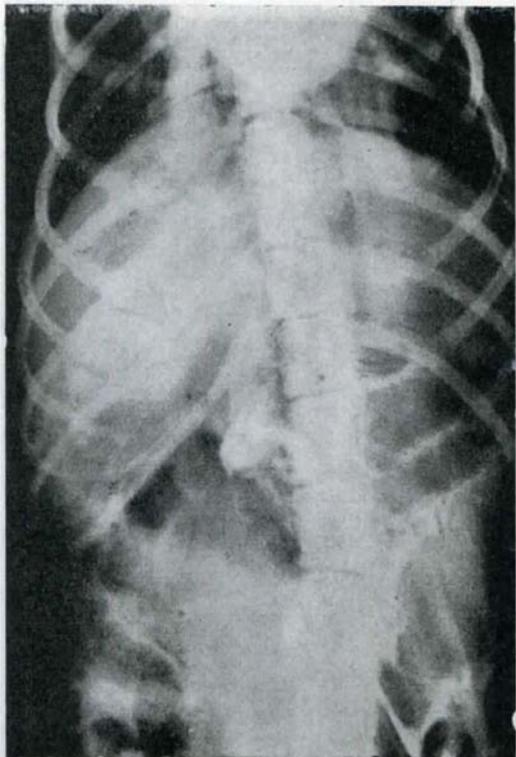


Fig. 2

porta, una aguja recta montada en seda fina pero resistente, saliendo un poco por debajo del nudo de fijación superior; nueva introducción de la aguja a través de la vena cava en un punto simétrico del de salida y exteriorización final por un punto de la cava simétrico del punto de entrada en la porta.

A continuación se practica otra sutura continua para formar la pared anterior de la comunicación. Una vez terminada esta sutura, con suaves movimientos de vaivén a modo de sierra, se van seccionando las dos tiras de paredes venosas comprendidas entre las dos suturas continuas

por medio de la seda introducida previamente. Este tiempo de la operación al más delicado, suele acompañarse de hemorragias, algunas veces algo aparatosas, pero que ceden muy bien con simple compresión. Seguidamente ligadura de la vena porta por encima de la pancreatoduodenal.

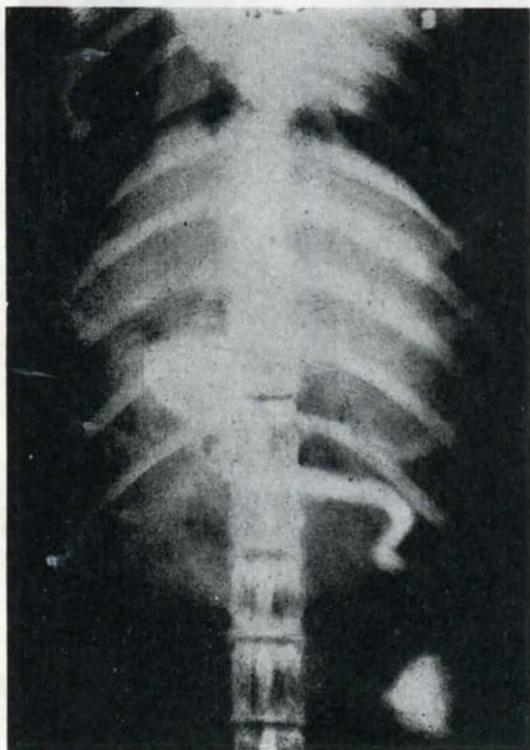


Fig. 3

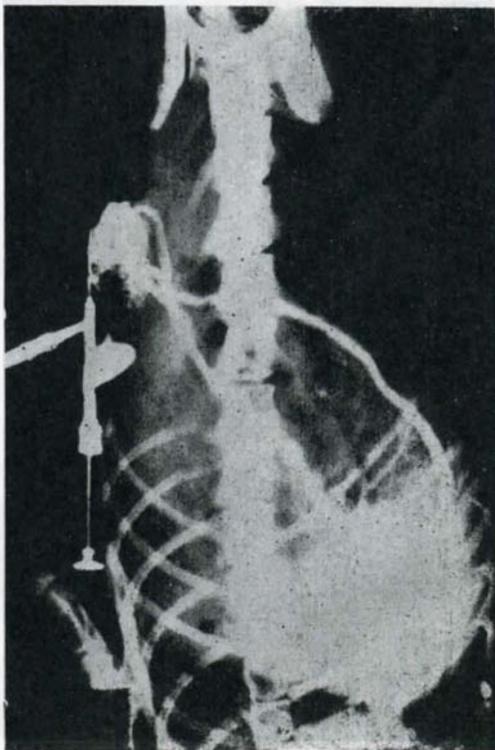


Fig. 4

### *Nuestra metódica quirúrgica*

La reciente publicación de KUNLIN sobre técnica de injertos venosos por sutura suspendida nos hizo pensar en su posible aplicación a las derivaciones porto-cavas de perros, empleando como más a propósito la variedad H. La rama horizontal de la H la obteníamos, al principio, de una vena superficial de la pata del perro, pero su calibre nos resultó insuficiente, recurriendo entonces a colocar este trozo de vena superfi-

cial en el lugar de la iliaca y ésta como rama horizontal de la H. La operación resulta compleja, pues es necesario realizarla en tres tiempos: 1) Obtención de la vena superficial. 2) Injerto ilíaco. 3) Injerto porto-cava; cada tiempo viene a tener una duración mínima de 6 horas. Por esta última razón acordamos realizarla en sólo dos tiempos: en una misma intervención obteníamos el trozo de vena periférica y hacíamos el injerto ilíaco; a los 7 días colocábamos el trozo de iliaca entre porta y cava. Aun así los resultados no fueron buenos, no sólo por los fallos debidos a la complejidad de la técnica, sino por el empleo de anillos de plástico, que no se toleraron bien.

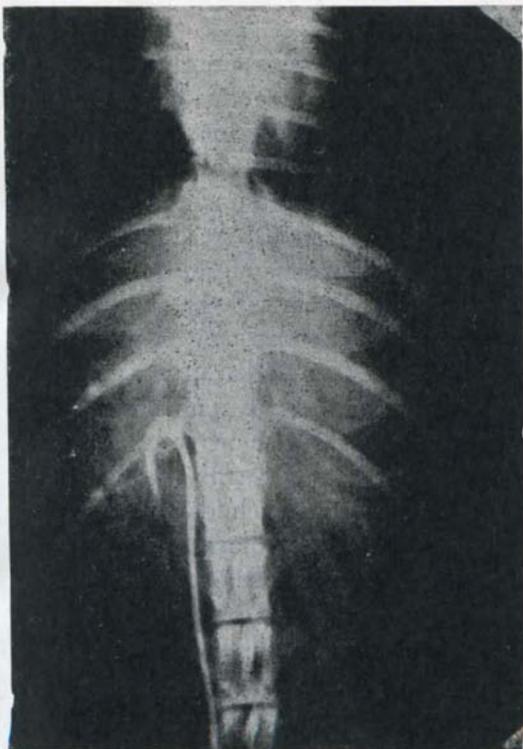


Fig. 5



Fig. 6

Entonces decidimos suprimir el tiempo periférico y hacer la anastomosis porto-cava con un trozo de yugular; los anillos de acero fueron sustituidos por otros de hilo de acero inoxidable de 0,8 mm. de sección. El rendimiento en esta ocasión tampoco fue el esperado.

Considerando la posición paralela de los vasos porta y cava en el perro, decidimos realizar la anastomosis latero-lateral, suspendiendo la línea de sutura hecha con puntos entrecortados a un anillo metálico, con lo cual la técnica queda muy simplificada, pues sólo hay que realizar una línea de sutura. La técnica que empleamos es la siguiente:

Anestesia general con tiopentón sódico (030 mg/Kg. de peso); perro intubado con bomba respiratoria. Incisión subcostal derecha, que va desde apéndice xifoides hasta la extremidad libre de la XII costilla. Sección del recto anterior y ligaduras de los vasos epigástricos. Sección del plano muscular superficial del abdomen y, después el profundo junto con el peritoneo, siguiendo el sentido de sus fibras y cuidando de no seccionar los paquetes vasculo-nerviosos metaméricos.

Se separan los bordes de la herida y se disecciona la vena porta inmediatamente antes del hilio hepático, pasando después una ligadura de lino grueso, cuyos extremos se fijan a una pinza de forcipresión. A continuación exponemos la vena cava en su parte más alta, seccionando para ello el ligamento hepatorenal y rechazando mediante una compresa grande la lengüeta hepática que la cubre. Se disecciona un trozo de vena porta en una longitud de unos 4 cms., situado a la misma altura que el último segmento visible de igual longitud de la vena cava. Se pasan dos ligaduras provisionales de seda muy gruesa, que se anudan con un solo nudo a un extremo y otro del segmento diseccionado. En la cava, y a la misma altura, se coloca un clamp seriado curvo, que excluye un trozo lateral de sus paredes sin interceptar totalmente la circulación cava. A continuación extirpamos, mediante una pinza gubia, una pastilla redonda de 1 cm. de diámetro en la pared anterior a la cava excluida y otro del mismo tamaño de la parte posterior de la porta. Se coloca ahora el anillo sobre el defecto creado en la cava y por dentro de él se da un primer punto introduciendo la aguja de fuera a dentro y de dentro a fuera en la porta. Se anuda el punto facilitando el ayudante la aproximación de las paredes y quedando un cabo corto y otro largo en cuyo extremo se encuentra la aguja atraumática. Este punto une la parte de la anastomosis que va a quedar más posterior. Se vuelve a dar otro punto a 1 mm. de la anterior utilizando otra seda con su correspondiente aguja. Anudamos ambos extremos cortos entre sí alrededor de un anillo metálico, con lo cual ambos quedan suspendidos en él. Se continúa la sutura por un extremo mediante puntos continuos hasta saturar un trayecto de unos 5 mm. El último se deja flojo, haciendo un asa de unos 5 cm. de larga, que se anuda con el extremo libre de hilo de sutura que lleva la aguja. Se corta este asa en su punto medio pasando un ex-

tremo alrededor del anillo, y anudándolos entre sí, con lo que queda este punto igualmente suspendido. Se hace la misma maniobra con el otro cabo de seda. Alternando con un cabo y otro se va completando la sutura, que al final queda suspendida al anillo por seis o siete puntos. Se afloja ahora la ligadura provisional de la porta más cercana al hígado y a continuación la otra ligadura de porta. Se suelta el clamp de la cava, con cuidado de no dañar la línea de sutura. Comprobada la hemostasia se anuda la ligadura que había preparada alrededor de la porta, a su entrada al hígado. Se comprueba si esta maniobra provoca hemorragia en la línea de sutura.

Cierre de la pared por planos y sutura de la piel.

### Cateterismo.

Pero anestesiado superficialmente con tiopentón intravenoso e intubado sobre la mesa de radiología. Seguimos la técnica de SELDINGER para la introducción, por punción percutánea de la vena femoral derecha, de un catéter radiópaco de ODMAN-LEDIN, a cuyo extremo libre

Los dos primeros puntos.

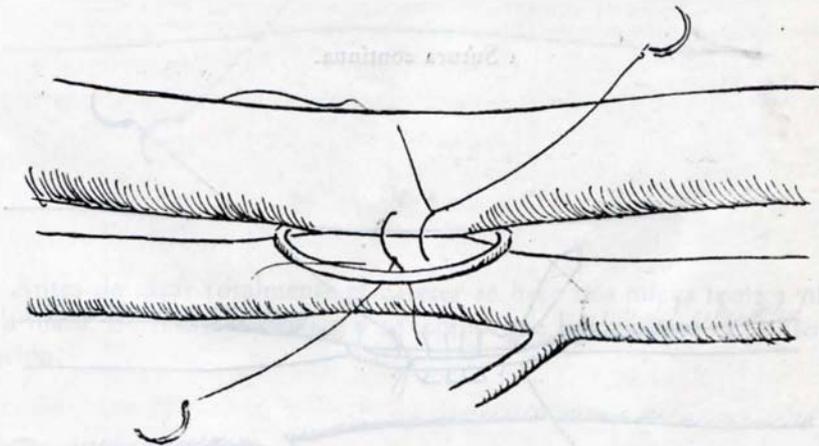


Fig. 1

se ha dado una curvatura parecida a la preconizada por ODMAN para el cateterismo del tronco celiaco. Introduciendo el catéter, se hace ascender por cava hasta por encima del nivel que se encuentra el anillo metálico. Se rota el catéter hasta hacer que la punta quede apoyada en la

pared anterior de la cava, en la que se encuentra el estoma anastomótico circunscrito por el anillo cuya permeabilidad ha sido comprobada

Los dos cabos cortos alrededor del anillo.

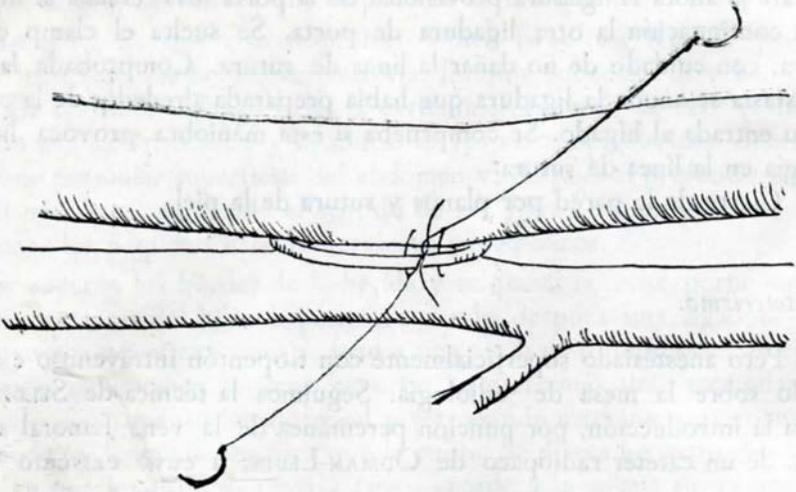


Fig. 2

Sutura continúa.

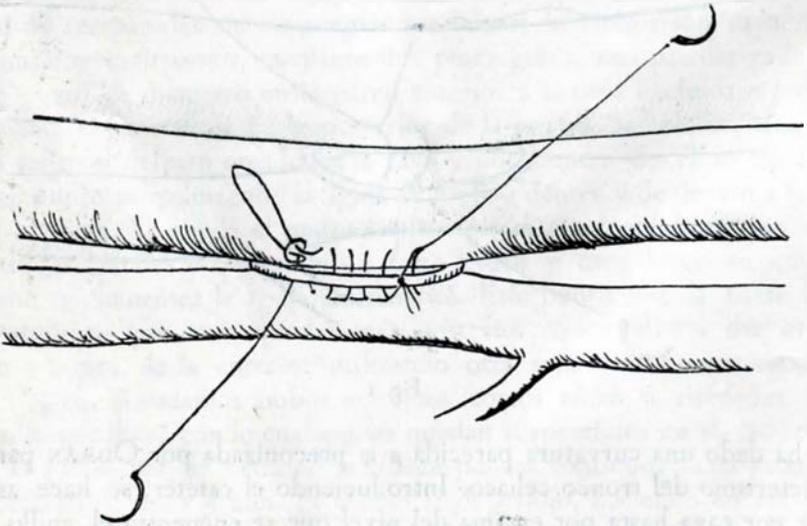


Fig. 3

previamente por esplenoportografía. Se va retirando el catéter hasta hacer pasar la punta dentro del anillo y avanzado unos dos cms. Radiografía de control y toma de una muestra de sangre de 10 cc. Se avanza nuevamente el catéter en la cava hasta el nivel diafragmático, donde realizamos un movimiento de vaivén con la punta de diferentes posiciones, hasta que se desplaza lateralmente a un punto, que no puede corresponder al anterior de la cava, se supone en una suprahepática por ser los únicos afluentes a ese nivel capaces de permitir el paso de la sonda. Verificación radiográfica y toma de la correspondiente muestra.

Se anuda alrededor del anillo.

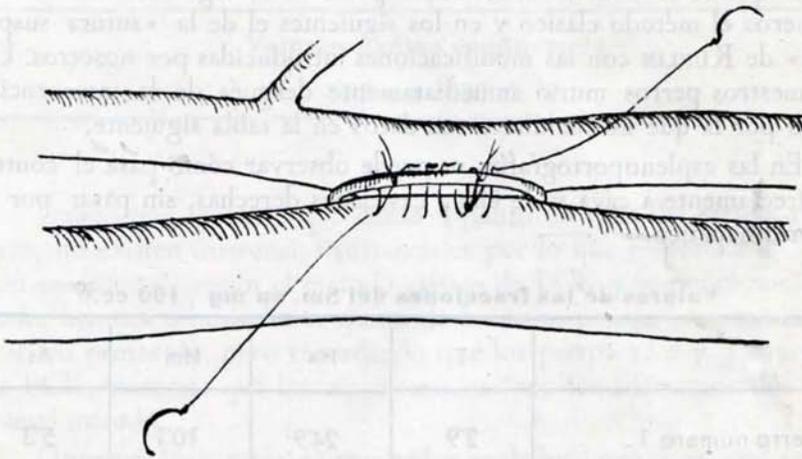


Fig. 4

Antes de sacar totalmente el catéter se hace una nueva toma a nivel de la iliaca. Se retira el cateter y se comprime ligeramente el punto de punción.

### *Esplenoportografía*

Anestesia general intravenosa. Incisión transversa en flanco izquierdo de unos 4 cms. de largo. Apertura de planos musculares por separación de sus fibras; apertura de peritoneo. Se identifica el bazo y se punciona con una aguja a un intermediario de plástico. Se inyectan unos

cms. de suero, lo que desencadena una hemorragia hacia la alargadera de plástico, lo cual nos ratifica la buena posición de la aguja en el parénquima esplénico. Se conecta el intermediario a un manómetro de agua y se determina la presión intraesplénica. Se centra tubo y placa y se dispara el final de la inyección rápida de 15 cc. de urografín al 60 %. Comprobado el éxito de la exploración, se retira la aguja, cerrando peritoneo, planos musculares y piel.

### Resultados experimentales

Presentamos los resultados obtenidos en ocho perros intervenidos en los que se realizó la anastomosis porto-cava, siguiendo en los tres primeros el método clásico y en los siguientes el de la «sutura suspendida» de KUNLIN con las modificaciones introducidas por nosotros. Uno de nuestros perros murió inmediatamente después de la intervención, razón por la que no incluimos sus datos en la tabla siguiente.

En las esplenoportografías se puede observar cómo pasa el contraste directamente a cava y de ella a cavidades derechas, sin pasar por territorio hepático.

**Valores de las fracciones del Sm. en mg / 100 cc.**

	T	Hx	Hm	As
Perro número 1 . . . . .	2'9	24'9	10'1	5'3
» » 3 . . . . .	2'2	20'5	9'7	5'3
» » 4 . . . . .	2'2	15'5	9'2	6'3
» » 5 . . . . .	2'7	24'6	9'9	9'2
» » 6 . . . . .	2'2	21'1	11	6'3
» » 7 . . . . .	2'9	24'1	9'8	10'2
» » 8 . . . . .	2'9	27'5	10'6	13'5
Valores medios . . . . .	2'56	22,61	10,04	6'6

**Valores basales**

Media . . . . .	3'5	14'25	8'01	7,48
-----------------	-----	-------	------	------

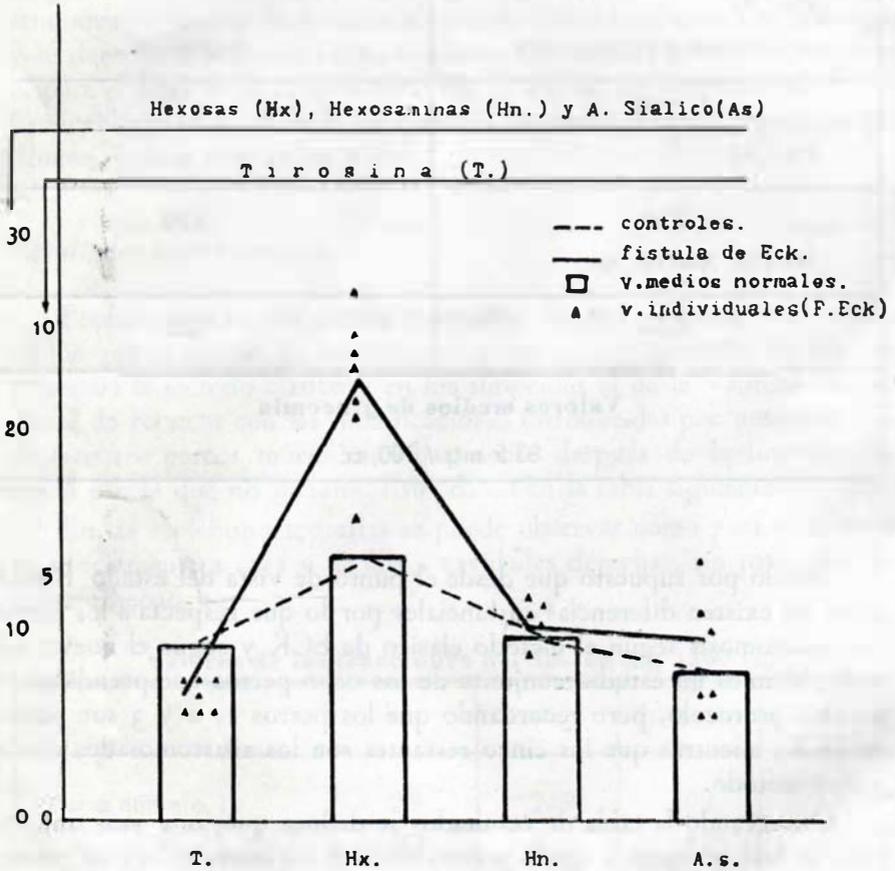
**Cociente de interés**

Hx / As Anastomosis porto - cava	Normales
2'25	1,79
Hx / As	
2'64	1'90
Hx-Hn / Mucop. tot.	
0,54	0,25
<b>Valores medios de glucemia</b>	
83'5 mg. / 100 cc.	

Dando por supuesto que desde el punto de vista del estado fisiológico, no existen diferencias sustanciales por lo que respecta a los perros con anastomosis según el método clásico de ECK y según el nuevo método, hicimos un estudio conjunto de los ocho perros comprendidos en nuestro protocolo, pero recordando que los perros 1, 2 y 3 son perros de ECK, mientras que los cinco restantes son los anastomosados con el nuevo método.

Observando la tabla de resultados se deduce que, una vez transcurrida la fase quirúrgica aguda y restablecidos los animales hay en primer lugar una disminución global de la fracción seromucoide. Los descensos afectan, sobre todo, a las fracciones tirosina y siálico; algo más discreta es la disminución de hexosaminas. Por el contrario, la fracción hexosas está francamente aumentada, no sólo de manera relativa sino también en sus valores absolutos. Todo ello bien expresado con claridad en los cocientes expuestos con respecto a los valores basales: así el cociente Hx/Hm sube de 1,79 a 2,25 y el de Hx/As de 1,9 a 2,64.

Distribución de valores en comparación con normales  
(Anastomosis porto - cava)



### Discusión

Nos parece perfectamente explicable esta disminución de las glucoproteínas en la anastomosis porto-cava, pues la exclusión de todo el aporte sanguíneo portal al hígado supone lógicamente una disminución global de las reacciones metabólicas vinculadas a la transformación y renovación de los glucoproteídos, como ya se sabía desde los extensos estudios de la escuela WHIPPLE sobre las disproteinemias, mejor hipoproteinemias, observadas por estos autores en perros con fístula de ECK. Asimismo es de interés la comprobación por otros autores (GRAS,

BIANCHI, etc)., en casos comparables, de hipoproteinemias con alteración del cociente albúmina, globulina.

Del conjunto de estudios sobre el metabolismo de las proteínas plasmáticas, se llega a la conclusión unánime, por otra parte muy razonable, de una disminución clara de la capacidad funcional del hígado. Es también muy interesante que, dentro de las globulinas, las gammas son las menos afectadas en estos estados, según numerosos investigadores (véase GRAS), siendo en cambio las alfa y beta, así como las albúminas, las que más se resienten en su formación. En estas fracciones, recordemos, es donde se incluyen la mayor proporción de las glucoproteínas del seromucoide, lo que hace concordar nuestros resultados con los obtenidos por otros autores.

Aunque dada la heterogeneidad de los glucoproteídos que constituyen el seromucoide, se admite en la actualidad un origen en múltiples sitios del organismo en relación, evidentemente, con la especificidad fisiológica de las subfracciones más conocidas (haptoglobina, tireoglobulina, protrombina, etc.), ello no obsta para que el hígado desempeñe un papel fundamental para una fase previa indispensable en la génesis de todas estas sustancias. Nuestros resultados confirman estas presunciones, pues no sólo se trata de una disminución global de la parte protéica (lo que se traduciría en una disminución sólo en la tirosina) sino que los constituyentes hidrocarbonados, hexosaminas y siálico, están como hemos visto, francamente descendidos. Por tanto, podemos admitir definitivamente que esta disminución de las fracciones del seromucoide es una expresión del menoscabo funcional hepático. En una de nuestras comunicaciones anteriores comentábamos brevemente las posibilidades de explicación del aumento de estas fracciones en la diabetes experimental: de acuerdo con los más modernos trabajos realizados sobre el metabolismo intermediario de estos constituyentes, el hígado es con seguridad donde se realizan las interconversiones implicadas, transaminaciones (hexosaminas), condensaciones piruvato-manosamina (siálico) etc. A este respecto es muy interesante, aunque no muy sorprendente, el notable aumento de la fracción hexosas del seromucoide, dentro del cuadro de la disminución de los demás constituyentes que, a nuestro juicio responden en parte al defecto primario de conversión en exosaminas y siálico por la hipofunción hepática. Este aumento se verifica a pesar de las bajas cifras de glucemia comprobadas por nosotros como por otros investigadores en diferentes modelos experimentales y que a nuestro juicio, es de un gran valor en el terreno de una explicación teó-

rica, ya que parece como si al estar alteradas las vías comunes de la utilización de la glucosa y de la glucogénesis, las disponibilidades de glucosa parece que son «adosadas» en mayor proporción a las «matrices» protéicas de los diversos complejos glucoprotéicos que, ante el déficit de hexosaminas y siálico, daría lugar a glucoproteínas «incompletas». En todo caso esto constituye una esfera de amplias posibilidades, todas ellas de enorme interés teórico.

### Conclusiones

- 1.<sup>a</sup>) Presentamos el estudio de las fracciones del seromucoide en 8 perros con anastomosis porto-cava.
- 2.<sup>a</sup>) Se describe un nuevo método de anastomosis porto-cava llamado de sutura «suspendida».
- 3.<sup>a</sup>) Se propone un método original de obtención de muestras de sangre portal y suprahepática por cateterismo profundo.
- 4.<sup>a</sup>) Los valores del seromucoide en sangre sistémica descienden en todas sus fracciones, a excepción de las hexosas, que están claramente aumentadas; se razonan algunas posibilidades para explicar estos cambios.

## BIBLIOGRAFIA

- BIANCHI, R. G. *Pren. Med. Argentina*, 43, 3202 (1956).
- BOGUTH, W. und Schnappanf Hp.: Fehlerquellen bei der papirelektrophoretischem Glycoproteinbestimmung von Serum *Naturwissenschaften*. 46, 145-146 (1959).
- CARROL, P. y CORUFORTH, J. W.: Preparation of N-acetyl-D-Manosamine. *Biochim. Biol. Acata* 39, 161-162 (1960).
- CHANUTIN, A. y cols.: *J. Biol. Chem.* 123, 247 (1928).
- FIESSINGER, N. y GOTHIE, S.: *C. R. Soc. Biol.* 112, 1053 (1933).
- C. W. FITCHETT: Alord transverse du flane pom anastomose porto-cave. *Surg. Gyn. Obst.* 114,2. Febrero 1962, págs. 246-248.
- GRAS, J. *Proteínas plasmáticas*. (1961).
- KERR, W. J.; HURWITZ, J. R. y WHIPPLE, G. H.: *Amer. J. Physiol.* 47: 379; (1918-1919).
- KOHN, P.; WINZLTR, R. y HOFFMAN, R.: Metabolism of D-Glucosamine and N-acetil-D-glucosamine in the intact rat. *J. Biol. Chem.* 237, 304-308 (1962).
- KUNLIN, J. MUTLER, J.: Traitement de l'hipertensión portale par une graffe vieneuse suspenduea des anneaux et enterposée entre les veines porte et cave. *Atraslourg méd.* 1962 13, n.º 8, 593-601.
- MORELL, M.: El seromucoide fraccionado. Valor y significación clínica. Tesis doctoral, 1663.
- ODMAN, P.: Percutanecus selective angiogrphig of the coelic artery. *Acta. Rad. Suppl.* 1958 n.º 159.
- PERÁN, F.: El seromucoide en el perro normal (inédito).
- PERÁN, F.; MORELL, M.; Glucoproteínas y diabetes experimental. El seromucoide fraccionado en la fase aguda. *Laboratorio* 1964.
- PERAN, F.; MONTEOLIVA, M.; MORELL, M.; LÓPEZ-GORGÉ, J.: Glucoproteínas y diabetes experimental. El seromucoide Proteinograma en la fase aguda. *Laboratorio* 1964 RAPPAPORT. A.; Clarke, D. W. y Stewart, M.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 80, 585 (1952).
- RIEDER, S. y BUCHANAN, M.: Studies on thebiological formation of glucosamine in vivo. I Origin of the Nitrogenaton. *J. Biol. Chen.* 232, 959-966 (1958).
- ROBERS, S. y WHITÉ, A.: *J. Biol. Chem.* 180: 505 (1949).
- SÉLDINGER, S. I.: Cathete replacement of the dædle in percutanecus arteriography (a new technique). *Acta Rad. Supper* 1953, 39, 368.
- TARVER, H. y REINHARDT, W. O.: *J. Biol. Chem.* 167: 395 (1947).
- VIOLLIER, G.: - *Helv. Med. Acta.* 17: 354 - (1950).